Aus der Basler medizinischen Universitätsklinik
(Vorsteher: Prof. Dr. *R. Staehelin*)

Ueber neue Modifikationen der Takataschen Leberfunktionsprobe

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde
der Hohen Medizinischen Fakultät
der Universität Basel

vorgelegt von

Paul Bots, med. prakt.
aus Basel

1938
Druck von Benno Schwabe & Co., Basel

Aus der Basler medizinischen Universitätsklinik
(Vorsteher: Prof. Dr. *R. Staehelin*)

Ueber neue Modifikationen der Takataschen Leberfunktionsprobe

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde
der Hohen Medizinischen Fakultät
der Universität Basel

vorgelegt von

Paul Bots, med. prakt.

aus Basel

1938

Druck von Benno Schwabe & Co., Basel

Genehmigt von der medizinischen Fakultät der Universität Basel
auf Antrag von Professor Dr. *R. Staehelin*
Tag der Promotion am 28. Januar 1938

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Sonderabdruck
aus der Schweizerischen Medizinischen Wochenschrift
68. Jahrgang 1938, Nr. 45, Seite 1230

Im Laufe der letzten Jahre sind eine Reihe von Aenderungen vorgeschlagen worden, um die bereits als klassisch anzusehende, von der Basler medizinischen Klinik 1929 modifizierte Takatasche Serumreaktion (TR) als Leberfunktionsprobe zu verfeinern. Auch sind nachträglich andere, auf ähnlichem Prinzip aufgebaute Reaktionen angegeben worden.

Wir haben uns zur Aufgabe gemacht, an größerem Krankenmaterial alle diese Neuerungen zu überprüfen und zu deren Vorzügen und Nachteilen gegenüber der ursprünglichen Reaktion Stellung zu nehmen. Obwohl die Methodik der Takataschen Flockungsreaktion in der Staub-Jezlerschen Modifikation durch die zahlreichen Publikationen hinlänglich bekannt geworden ist, soll sie hier nochmals genau mitgeteilt werden, bildet sie doch den Ausgangspunkt, auf den immer wieder zu verweisen sein wird.

In 8 kleinen Reagensgläschen wird aus 1 ccm Serum mit 0,9% Kochsalzlösung eine Verdünnungsreihe von 1 : 2 bis 1 : 256 abgestuft. Der Inhalt jedes Glases wird mit je 0,25 ccm 10%iger Sodalösung alkalisiert. Darunter ist, wie *Jezler* (1) neuerdings betont hat, eine Lösung des wasserfreien Natriumkarbonats zu verstehen. Zum Schlusse wird je 0,3 ccm Takata-Reagens, d. h. einer frischbereiteten Mischung von gleichen Teilen 0,5%iger Sublimatlösung und 0,02%iger Fuchsinlösung zugefügt. Die Portionen werden gut umgeschüttet und in einem Gestell bei Zimmertemperatur aufbewahrt. Die schätzungsweise Beurteilung ist aus der erkennbaren flockigen Trübung, bzw. aus dem Klarbleiben schon vor Ablauf einer Stunde möglich. Zur genauen Bewertung ist es aber unbedingt nötig, daß 12—24 Stunden zugewartet wird. Die Reaktion gilt dann als positiv, wenn in mindestens 3 Gläsern deutliche Flockung aufgetreten ist[1]). Es braucht kaum betont zu werden, daß diese 3 flockenden Portionen direkt aufeinander in der Reihe folgen müssen. Bei richtiger Ausführung der Probe wird das immer der Fall sein. Mit Flockung darf man natürlich die bloße Farbstoffsedimentation, wie sie häufig bei starken Verdünnungen auftritt, nicht verwechseln. Flockung kann von Salzausfällung leicht unterschieden werden beim Betrachten der in der Hand gehaltenen Gläser von unten. Der echte Flockungsniederschlag ist viel undurchsichtiger als derjenige des Farbstoffs, welcher auf diese Weise kaum zu erkennen ist. Es empfiehlt sich die Dreiteilung des Flockungsresultates in den einzelnen Röhrchen: „+++“ starker Niederschlag mit klarer farbloser über-

[1]) Flockung in nur 2 Gläsern kann als (+) (zweifelhaft) bezeichnet werden.

stehender Flüssigkeit, „++“ geringerer Niederschlag bei noch trüber, gefärbter Flüssigkeit, „+“ eben erkennbarer Niederschlag im trüben Glasinhalt. Diese Zeichen lassen sich zwanglos auch durch Ziffern (3, 2, 1) ersetzen. Von weitergehender Unterteilung ist abzuraten. Trübungen zu bewerten und diese gar graduell abzustufen, ist unzulässig. Auch bei dieser Beschränkung darf auf die Größe der Additionszahl nicht zu viel Wert gelegt werden. Für die Diagnostik kommt es in erster Linie darauf an, ob die Reaktion positiv ist oder nicht. Dies läßt sich generaliter meist leicht feststellen, während die quantitative Abstufung im einzelnen immer wieder auf Schwierigkeiten stößt.

Bei den tausendfachen Nachprüfungen haben es manche Autoren nötig befunden, Abänderungen der Ausführungsvorschriften vorzunehmen. Ueber die einzelnen Modifikationen ist die Literatur noch klein, und es lohnt sich, einmal genauer darauf einzugehen. Die Modifikationen können in 3 Gruppen unterteilt werden: Abänderungen der Ablesungs- oder Beurteilungsart der TR, Aenderungen der Methodik der TR, und Ersatz der TR durch eine auf gleichem Prinzip aufgebaute neue Reaktion.

1. *Geänderte Ablese- und Beurteilungsart: Skouge, Oefelein, Hafström, Pongor, Recht, Gemeinhardt.*

2. *Aenderung der Reaktion: Ginkel, Ucko, Mancke* und *Sommer.*

3. *Ersatz durch eine im Prinzip entsprechende Reaktion: Bauer* (Magnesiumchlorid), *Oliva* (Reazione di opacificazione), *Staub* und *Jezler* (Mastix, Paraffin, Siliquid) und *Bauer* (Goldsol).

Von diesen Vorschlägen soll im nachfolgenden der Reihe nach die Rede sein, dergestalt, daß zuerst die Modifikation beschrieben, anschließend die Erfahrungen bei der Ueberprüfung mitgeteilt und zuletzt eine kritische Beurteilung angefügt wird.

I. Geänderte Ablese- und Beurteilungsart

Skouge (2) war der erste, welcher die Originalmethode nicht ungeändert übernommen hat. Statt nur anzugeben, ob der Ausfall positiv oder negativ zu beurteilen sei, führt er zum Resultat in Klammern eine Zahl bei, die angibt, in wieviel Röhrchen Flockung aufgetreten war. Im übrigen hält er sich an die Originalvorschriften, ändert also das Negativzeichen in ein positives von der Zahl 3 ab. Die Aenderung scheint auf den ersten Blick ein Fortschritt zu sein. Auch wir haben uns ihrer eine Zeitlang bedient. Doch wird damit nur die Ausdehnung der Flockung, nicht aber deren Stärke in den Einzelportionen näher bezeichnet. Letzteres ist aber zur Beurteilung von ebenso großer Wichtigkeit. Die Zahlenbezeichnung nach *Skouge* gibt demnach keinen exakten Maßstab.

Oefelein (3) bewertet in jedem Verdünnungsröhrchen den Ausfall nach 6 Graden (0 = klar, 1 = leichte Trübung, 2 = vollständige Trübung, 3 = Trübung mit Bodensatz, 4 = leichte Trübung mit Bodensatz und 5 = klar mit starkem Bodensatz). Diese Beurteilungsart entspricht etwa derjenigen der Mastixprobe im Liquor. An der Basler medizinischen Klinik sind über längere Zeit die Takatareaktionen nach *Oefelein* beurteilt worden. Diese Vorgehen hat sich nicht bewährt. In der Differenzierung der Mischungsänderung wird zu weit gegangen. Trübungen als solche

sind für den Reaktionsausfall belanglos. Es ist unnötig, diese noch stufenweise einzuteilen. Gruppe 1 und 2 sind demnach hinfällig. Die kolloidchemischen Verhältnisse im Blut weichen von denjenigen im Liquor weitgehend ab, und es geht nicht an, Methoden der Liquordiagnostik ohne weiteres im Serum anzuwenden.

In seiner ausführlichen Arbeit bedient sich auch *Hafström* (4) einer eigenen Ableseart. Er teilt in 4 Stufen, wobei in Stufe 1 alle Trübungen, in Stufen 2—4 die verschiedenen Flockungsstärken gefaßt werden. *Hafström* braucht diese Methode auch zur graphischen Wiedergabe. *Del Cannizzo* (5) beurteilt nach dem gleichen Schema, bemerkt aber mit Recht, daß man bei der „Ablesung" der Reaktion immer 2 Dinge zu sondern habe: Beurteilung der Trübung bzw. Flockung in den einzelnen Gläsern und die Einschätzung des endgültigen Ergebnisses; für beides seien empirisch gefundene Gesetze aufzustellen.

Pongor (6) hat die Reaktion dadurch zu verfeinern gesucht, daß er nach einer bestimmten Zeit die Niederschlagshöhen maß. Seinem Vorschlag folgten einzig *Timpano* (7) sowie *Recht* (8), der noch weiter ging und genaue Limiten angab für die Niederschlagshöhen (3—6 mm: +, 6 bis 10 mm: ++, über 1 cm: +++) und außerdem Niederschläge unter 3 mm, schwebende Niederschläge und bloße Trübungen mit eigenen Zeichen belegte. Dabei wurde aber vergessen mitzuteilen, welchen Durchmesser die Eprouvetten haben sollen. Es erübrigt sich die Feststellung, daß hier die Genauigkeit zu weit getrieben wird.

Es kann ebenfalls als Modifikation angesehen werden, wenn *Gemeinhardt* (9) die TR statt im Serum im Plasma ausführt. Dergestalt sind Vergleiche mit der Senkungsprobe sauberer durchführbar, da bei beiden Reaktionen das Fibrinogenglobulin ausgeschaltet ist. Die Flockungen sollen sich unvermindert auch im Plasma einstellen. Dies ist insofern bemerkenswert als nach *Magath* (10) die Flockungsstärke an den Fibringehalt hätte gebunden sein sollen.

II. Aenderung der Reaktion

a) Einen ersten Abänderungsvorschlag machte *van Ginkel* (11).

Das Fuchsin wird weggelassen und statt dessen als Reagens 0,3 ccm einer 0,25%igen Sublimatlösung zugesetzt. Die Verdünnungsreihe wird nur bis zum 7. Glas, d. h. bis 1 : 128 geführt. Außerdem wird sofort abgelesen. Ohne Fuchsinlösung sei die Ablesung erleichtert, und der kristalloide Farbstoffniederschlag trete nicht mehr störend auf.

Wir haben eine große Zahl von Seren nach beiden Methoden, der originalen und der van Ginkelschen, untersucht. Die Ausflockung trat stets bei der gleichen Serumverdünnung auf. Die Stärke der Flockung variierte nur ganz wenig, und das Ergebnis war in allen Fällen übereinstimmend. Mit Fuchsin läßt sich die Flockung leichter und deutlicher erkennen, während ohne Farbstoff die Trübungen besser hervortreten. Es ist richtig, daß im Serum auf die Fuchsinfarbänderung kein Gewicht gelegt werden kann. *Takata* selbst gibt zu, daß aus ihr im Gegensatz zur Liquorprobe kein Rückschluß auf den Eiweißgehalt gezogen werden kann. Das ist aber nicht Grund genug, um von der Originalvorschrift abzuweichen. Das Weglassen des Fuchsins vereinfacht die Methode

wenig. Dafür wird die Beurteilung des Wesentlichen (Flockung) erschwert und nur die Beurteilung des Unwesentlichen (Trübung) erleichtert. Ein Farbstoffniederschlag kristalloider Art kann stets von der richtigen Flockung gesondert werden (s. o.). In seltenen Fällen (speziell bei Knochenmarksaffektionen wie Myelom, Knochenmarksmetastasen) kann sich die Flockung bis über Glas 7 ausdehnen. Eine solche Feststellung ist diagnostisch wichtig. Wir empfehlen deshalb nicht, die Verdünnungsreihe zu verkürzen. Das sofortige Ablesen endlich darf nur approximativ sein. Die genaue Beurteilung kann erst nach 12—24 Stunden erfolgen.

Darauf ist übrigens schon von verschiedener Seite hingewiesen worden (*Hafström, Gros* [12]). Eine Reihe von Autoren haben trotzdem ihren Untersuchungen die Ginkelsche Modifikation zugrunde gelegt (*Hafstrom, Crane* [13], *Heath* [14]). *Crane* und *Heath* reduzierten sogar bis auf 6 Verdünnungen.

b) *Modifikation nach Oefelein:* Diese Modifikation ist belanglos und sei nur der Vollständigkeit wegen angeführt. *Oefelein* verdünnt das Serum 9 mal, also bis auf 1 : 512, und setzt sowohl von der Sodalösung wie von der Takatamischung nur 0,2 ccm zu. Eine Begründung für dieses Vorgehen gibt der Autor nicht.

c) *Modifikation nach Ucko. Ucko* (15) modifizierte die Originalmethode in mehrfacher Hinsicht. Deshalb hielt er sich für berechtigt, das Produkt unter neuem Namen (Modified reaction, M. R.) in der Literatur einzuführen.

In 5 kleine Gläschen werden je 0,2 ccm Serum pipettiert. Dazu kommen steigende Mengen einer 0,36%igen Lösung von wasserfreier Soda und zwar 0,10 bzw. 0,15, bzw. 0,20, bzw. 0,25, bzw. 0,30 ccm. In gleichen Mengen wird 0,5% Sublimatlösung zugesetzt und gut umgeschüttelt. Die Ablesung erfolgt sofort und nach 1½ Stunden. Es werden 4 Ausfallstypen unterschieden. Reaktion I (Klarbleiben oder Opaleszenz in allen oder wenigstens 3 Gläsern) soll außer beim Lebergesunden bei einfacher Leberstauung auftreten. Reaktion II (undurchsichtiger Niederschlag in den ersten 3 Gläsern) charakterisiere die zirkumskripten Leberaffektionen, Reaktion III (undurchsichtiger Niederschlag in allen Gläsern) und Reaktion IV (dasselbe, aber sofort eintretend) komme nur bei Zirrhosen vor.

Ucko geht aus vom Gedanken *Bauers*, wonach für die Empfindlichkeit der Flockungsreaktion die Alkalinität (Sodakonzentration) des Milieus von Wichtigkeit ist. Soda und Sublimat zusammen kommt die eiweißfällende Wirkung zu. Die Modifikation wähle deren Konzentrationen so, daß weder Soda noch Sublimat ungebunden in der Lösung vorhanden sei. Es wird außerdem mit unverdünntem Serum gearbeitet, damit der die Eiweißfällung beeinflussende Verdünnungsfaktor ausgeschaltet ist. Fuchsin wird auch hier nicht zugesetzt.

Wir haben bei 70 verschiedenen Seren die Uckosche Modifikation mit der Originalmethode verglichen. Statt der Einzelergebnisse wird in Tabelle 1 eine zusammenfassende Uebersicht gegeben. Beide Resultate stimmen danach weitgehend überein. Die Gruppe II könnte füglich zu Gruppe I geschlagen werden, da sie nichts diagnostisch Verwertbares bringt. In Gruppe III finden

sich als TR-positiv: 3 Stauungslebern bei Kreislaufdekompensation sowie eine Cholangitis. Der TR-negative, bzw. TR-zweifelhafte Anteil entfällt hingegen auf folgende Krankheiten: Rückenmarkstumor, Polyarthritis, Hauttuberkulose und Hyperthyreose. Eine „zirkumskripte Leberaffektion" ist nicht darunter. Solche finden sich hingegen neben 2 Laënnecschen Zirrhosen, 2 multiplen Myelomen und 4 Stauungszirrhosen in Gruppe 4: Leberechinococcus und Metastasenleber. Der einzige hier nach der Originalmethode negative Fall führte die Diagnose Diabetes mellitus.

Tabelle 1

Reaktionsstufe nach *Ucko*	Anzahl der Fälle	Davon waren mit der Originalmethode negativ	zweifelhaft	positiv
		—	(+)	+
I	40	37	3	0
II	11	10	1	0
III	8	2	2	4
IV	11	1	0	10

Nach unserm Dafürhalten bringt die Uckosche Modifikation keinen diagnostischen Fortschritt. Keineswegs besteht eine größere Treffsicherheit für Leberkrankheiten. Es ist auch nicht einzusehen, warum das Verzichten auf die Serumverdünnungsreihe und das willkürliche Aendern der Sublimatkonzentration präzisere Ergebnisse brächte. Die „Uckosche Reaktion" ist auch nicht einfacher in der Ausführung als die Originalmethode. Wenn auch das Ansetzen der Verdünnungsreihe wegfällt, so ist doch das Abmessen der ganz verschiedenen, kleinen Mengen von Soda- und Sublimatlösung zeitraubend. Allerdings kann die Beurteilung des Resultates rasch vor sich gehen, denn schon nach 1½ Stunden ist die Flockung maximal. Aber die Zuteilung in die verschiedenen Reaktionstypen macht oft Schwierigkeiten; denn mit den 4 Gruppen sind die Ausfallsmodalitäten nicht erfaßt. *Ucko* selbst hat in seinen verschiedenen Publikationen die Rubrizierungsvorschriften immer wieder ändern müssen.

Die Uckosche Modifikation ist mit großem Material von *Cozzutti* (16) und *Benedetto* (17) nachgeprüft worden. *Cozzutti* hat seinerseits die Ablesevorschriften geändert. Beide Autoren kommen zum Schluß, daß die Uckosche Probe ein gutes Orientierungsmittel über die Funktion der Leber darstelle. Die Reaktion ist auch von *Staub* und *Jezler* (18) nachgeprüft worden; diese fanden in ihr gegenüber der Originalmethode keinen Vorteil.

d) *Die Modifikation nach Mancke und Sommer* (19) kann ebenfalls als wesentliche Modifikation gelten.

10 Hämolyseröhrchen werden mit je 0,1 ccm Serum beschickt. Dieses wird mit 0,9%iger Kochsalzlösung steigend verdünnt, dergestalt,

daß zum ersten Gläschen 1,0 ccm, zum zweiten 1,1 ccm gegeben werden und so fort bis zu Glas 10, in das 1,9 ccm zu pipettieren sind. Jede Portion erhält 0,4 ccm 10%ige Sodalösung. Die 0,25%ige Sublimatlösung wird wieder unterschiedlich verteilt, diesmal in fallenden Mengen, ausgehend von 1,0. Nach gutem Umschütteln werden die Gläser 24 Stunden stehen gelassen.

Während *Ucko* versucht hat, die Originalmethoden dadurch zu verfeinern, daß er im unverdünnten Serum die Alkalität allmählich ansteigen ließ, geschieht das bei *Mancke* und *Sommer* bei gleichbleibender Serumkonzentration ($^1/_{16}$) durch Aenderung des zuzusetzenden Reagens, das auch hier unter Weglassen des Fuchsin-Farbstoffs nur in einer Sublimatlösung besteht. Die Konzentration der letzteren variiert mit je 10 mg% Differenz von 100 mg% in Glas 1—10 mg% in Glas 10[2]). Das Ziel ist hier das Erfassen der Flockungsbereitschaft mit einer Zahl die als „Grenzkonzentration", bei der eben noch Flockung eintritt, gefunden wird.

Normalserum soll im ganzen Bereich nicht zur Flockung kommen, die mit der Originalmethode positiven Seren hingegen schon bei Konzentrationen unter 50 mg%. Trübungen werden mit Recht nicht miteinbezogen. Als wichtig wird hervorgehoben, daß auch takatanegative, aber bereits „veränderte" Seren durch ihre Flockungsbereitschaft im Bereich von 50—100 mg% erfaßt werden können.

Wir haben 51 Seren nach dieser Modifikation untersucht. Das Resultat ist in Tabelle 2 zusammengestellt, wiederum vergleichsweise mit der Originalmethode. Obwohl auch Gesunde unter dem Material waren, erhielten wir den „Normalwert" (d. h. keine Flockung im Reaktionsbereich) nur dreimal (Defatigatio, Cholezystitis, Parenchymikterus!). Die übrige Verteilung erkennt man aus der Tabelle. Die mit der Originalmethode positiven Seren finden sich fast restlos in der Zone unterhalb 70 mg%. Das Blut, das bei der Grenzkonzentration 70 auch mit der TR flockte, stammte von einem Patienten mit Cholelithiasis, dasjenige, das trotz Grenzkonzentration 50 keine positive TR gab, von einem solchen mit Polyarthritis. In der kritischen Zone zwischen 70 und 100 fand sich (abgesehen von einem Parenchymikterus mit Grenzkonzen-

Tabelle 2

Modifikation nach *Mancke* und *Sommer* Grenzkonzentration	Anzahl der Fälle	Davon waren nach der Originalmethode positiv
über 100	3	0
100	7	0
90	13	0
80	10	0
70	8	1
60	2	2
50	2	1
40	4	4
20	2	2

[2]) Bei der Originalmethode ist die Sublimatkonzentration in jedem Röhrchen die gleiche, d. h. 48 mg%.

tration 90) kein einziger Fall von Leberleiden! Bei der Manckeschen Modifikation tritt die Flockung ziemlich präzis auf. Das Ablesen macht keine Schwierigkeiten. Aber durch diese Abstufung ist die ursprüngliche Flockungsreaktion viel komplizierter geworden. Nach unseren Erfahrungen wird die diagnostische Ausbeute trotzdem nicht größer. Daß bei der abgestuften Takatareaktion das Ergebnis zahlenmäßig genau ausgedrückt werden kann, darf nicht ohne weiteres als Vorteil genommen werden. Biologisches Geschehen läßt sich nicht stets auf einheitlichen Nenner bringen.

III. Ersatzreaktionen, die der Originalmethode im Prinzip entsprechen

In einer letzthin erschienenen Arbeit weisen *Seiler* und *Rehm* (20) darauf hin, daß die Modifizierung der ursprünglichen Serum-Takata-Probe durch *Staub* und *Jezler* einzig in der Aenderung der Verdünnungsprozedur bestehe. Das ist richtig. Es muß aber hervorgehoben werden, daß das Wesentliche der Modifikation nicht bei der Methodik, sondern beim *Anwendungsgebiet* zu suchen ist. Erst durch die Uebertragung der Takatareaktion in die *Leberdiagnostik* hat diese ihre jetzige Bedeutung erhalten. Das Vorgehen war insofern neuartig, als vordem (d. h. bis 1929) ganz allgemein die Ansicht vertreten worden ist, Lebererkrankungen gingen mit einer Abnahme der Globuline einher, da die grobdispersen Eiweißkörper in der Leber gebildet würden. Ein Ueberwiegen der Albumine begünstige dann das Auftreten der direkten Diazoreaktion im Serum, welche ebenfalls für Leberschädigung charakteristisch sei. Bei einem großen Teil von Leberschädigungen (Zirrhosen etc.) liegen aber Störungen der Eiweißregulation gerade im umgekehrten Sinn vor. Das ist erst durch die modifizierte Takatareaktion allgemein bekannt geworden.

Im Gefolge der umfänglichen Takata-Literatur sind auch neue Reaktionen angegeben worden, welche auf denselben Fragenkomplex gerichtet sind. Wir halten uns für berechtigt, diese in Zusammenhang mit den „Modifikationen" aufzuführen. Wenn auch nicht mehr Quecksilbersalze als eiweißfällendes Agens Verwendung finden, sondern Magnesiumchlorid *(Bauer)*, alkoholische Rizinollösung (*Oliva*) Mastix, Paraffin, Siliquid (*Staub* und *Jezler*) oder *Goldsol* (*Bauer*), das tragende Prinzip, die Eruierung der Flockungsbereitschaft ist beibehalten worden.

a) *Magnesiumchloridprobe nach Bauer*

Wie bei der Originalmethode wird mit physiologischer Kochsalzlösung eine Verdünnungsreihe hergestellt, aber nur über 6 Gläschen. Jeder Portion wird 1 ccm einer ⅓ gesättigten Magnesiumchloridlösung[3])

[3]) Genaue Herstellung cf. Originalarbeit.

zugesetzt. Die ganze Serie wird hierauf 15 Minuten im Wasserbad erhitzt. Genaue Angaben über die Bewertung werden vermißt. Doch hat Flockung erst ab Glas 3 als positiv zu gelten. Hydrotrope Salze sollen die Hitzeflockung von Eiweißlösungen verhindern, nicht aber, wenn Globuline, insbesondere Euglobuline, vermehrt vorhanden sind. *Bauer* (21) betont, daß seine Methode schon positiv ausfalle, wenn der Globulinanteil mehr als 35% des Gesamteiweißes ausmache. Bei der Originalmethode sei das erst bei 55% der Fall.

Danach wäre zu erwarten gewesen, daß von den 82 untersuchten Blutproben die Bauersche Probe häufiger hätte positiv, d. h. in mehr als 2 Gläsern koagulierend ausfallen sollen als die Originalmethode. Die vergleichende Zusammenstellung in Tabelle 3 zeigt, daß dies nicht der Fall war. Im Gegenteil sind 4 nach *Bauer* negative Seren nach der TR positiv. Die klinische, z. T. autoptisch kontrollierte Diagnose dieser Fälle lautete: Cholelithiasis mit Obstruktionsikterus, Metastasenleber bei Struma maligna, Zystinurie und Stauungsleber. Nur einmal war bei positiver Bauerscher Probe die TR negativ (Myodegeneratio cordis).

Tabelle 3

Anzahl der Röhrchen mit Flockung nach Bauer		Anzahl der untersuchten Seren	Davon waren nach der Originalmethode positiv
0	—	13	0
1	—	46	2
2	—	15	2
3	+	4	3
4	+	2	2
6	+	2	2

Die Ausführung der Bauerschen Magnesiumchloridreaktion ist, abgesehen von der Herstellung des Reagens, nicht kompliziert. Hingegen macht die Bestimmung der Flockungsgrenze oft Schwierigkeiten. Da aber von einer Ueberlegenheit der Bauerschen Probe gegenüber der ursprünglichen Flockungsreaktion kaum die Rede sein kann, besteht auch kein Grund, die Originalmethode deshalb fallen zu lassen.

b) *Die Olivasche „Reazione di opacificazione“.*

Auch die im Jahre 1935 von *Oliva* (22) bekanntgegebene reazione di opacificazione hat die TR zur Voraussetzung. Auch sie soll auf die Serumlabilität gerichtet sein. Die Technik weicht von der Originalmethode wesentlich ab.

Von 4 Reagenzgläschen wird in das erste genau 0,01 ccm einer 3%igen alkoholischen Rizinolsäurelösung pipettiert, in das zweite ebensoviel einer 4%igen Lösung und in das dritte die gleiche Menge einer 5%igen Lösung. In das 4. Glas kommt 0,01 ccm des Lösungsmittels (Aethylalkohol) als Kontrollversuch. Zu jeder Portion wird darauf 1 ccm Serum gegeben. Nach gründlichem Umschütteln während einer Minute kommt die ganze

Serie eine Stunde lang in ein Wasserbad von 50°. Nachher wird in die abgekühlten Eprouvetten je 1 ccm Alkoholäthermischung (Narkoseäther, der zu 9% 95%igen Alkohol enthält) gefügt. Nach 10 Minuten langem Schütteln werden die Gläser auf 3 Stunden in einen Thermostaten von 37° gestellt. Dann kann das Resultat abgelesen werden. Nur undurchsichtige Trübung ist positiv zu werten. Die Kontrolle muß klar bleiben.

Wenn die Ausführung auch nicht schwierig ist, so ist sie doch recht zeitraubend. Zum Abmessen der kleinen Quantitäten der zähflüssigen Rizinolsäure sind besonders exakte Pipetten erforderlich. Die Probe beansprucht außerdem ziemlich viel Serum.

Einige Resultate sind in Tabelle 4 zusammengestellt. Sie bestätigen die Angabe *Olivas*, wonach Takatareaktion und Olivaprobe weitgehende Parallelität zeigen. Takatanegative Fälle reagierten nach *Oliva* durchwegs negativ, takatapositive durchwegs positiv. Die positive Zone der Olivaprobe ist insofern etwas größer als diejenige der Originalreaktion, als auch alle nach Takata zweifelhaften Fälle mit dem Olivareagens undurchsichtig trübe wurden. Das dürfte als diagnostischer Vorteil gelten. Die übereinstimmenden Resultate widersprechen der Ansicht *Olivas*, wonach die beiden Reaktionen ganz verschiedene Labilitäten aufdecken. Den Beweis dafür glaubte *Oliva* im Verhalten gegenüber Kaolin zu sehen; durch die Kaolinadsorption werde die positive Olivaprobe aufgehoben, während die Takataflockung unbeeinflußt bleibe. — Die Ausführung der Olivareaktion läßt aber auch ihre Nachteile erkennen.

Tabelle 4

Name	Diagnose	Olivaprobe Ricinolsäure 3%	4%	5%	Kontrolle	Resultat	Resultat der Originalmethode
Kö	Stauungszirrhose .	IV	IV	IV	I	+	+
Me	Leberzirrhose . . .	IV	IV	IV	III	+	(+)
Sch	Hyperthyreose . .	IV	IV	IV	II	+	(+)
Wil	Leberzirrhose . . .	IV	IV	IV	I	+	(+)
Ja	Leberzirrhose . . .	III	IV	IV	I	+	+
Ur	Leberzirrhose . . .	III	IV	IV	IV	+	+
Wü	Stauungszirrhose .	IV	III	IV	III	+	+
Ja	Glomerulonephritis	III	III	IV	I	+	(+)
Wei	Leberzirrhose . . .	II	IV	III	III	+	(+)
Ga	gesund	II	III	III	I	—	—
Ke	Polyarthritis . . .	I	III	III	I	—	—
Ru	Ca. ovarii	II	II	III	II	—	—
Wen	gesund	I	I	III	I	—	—

I = klar.
II = opal.
III = Trübung.
IV = undurchsichtige Trübung.

Eine Abstufung wird durch die 3 Röhrchen nicht ermöglicht, meist trüben sich alle Portionen gleich intensiv. Es genügte an sich schon die 4%ige Rizinolsäure. Bei längerem Zuwarten können sich auch vorher negative Röhrchen bis zur Undurchsichtigkeit trüben. Ebenso bleibt die Kontrollportion mit Alkohol nicht immer eindeutig. Als klinische Methode wird sich die Olivaprobe kaum einbürgern.

c) *Kolloidreaktionen der Liquordiagnostik.*

In ihrer Arbeit „über Kolloidreaktionen im Serum" haben *Staub* und *Jezler* eine ganze Reihe Liquorproben auf ihre Eignung zur Serumdiagnose geprüft. Sie sind zum Schluß gekommen, daß die Mastix-, Paraffin- und Siliquidreaktion einigermaßen paralleles Verhalten mit der Takatareaktion zeigen und als Ersatzreaktionen in Betracht kommen können. Diese Angaben sind unseres Wissens nie mehr nachgeprüft worden. Einzig *Bauer* hat vor kurzem eine Liquorreaktion auch für das Blut empfohlen, ausgerechnet die subtile Goldsolreaktion, welche von *Staub* und *Jezler* abgelehnt worden ist.

Für die Technik dieser Reaktionen sei auf die betreffenden Kapitel der Liquordiagnostik (speziell *Schmitt* [23]) und auf die Arbeit von *Staub* und *Jezler* verwiesen.

Mastixreaktion: Die Ablesung erfolgt nach 2, 6 und 24 Stunden. Die Ausflockung ist aber meist schon bei der ersten Ablesung recht deutlich. Sie ist bei takatapositiven Seren stärker als bei den anderen. Bei längerem Zuwarten aber verwischen sich die Grenzen und nach 24 Stunden ist häufig bei positiven wie bei negativen Proben die Flockung maximal, d. h. in allen Gläsern zu beobachten. Also nur wenn exakt gearbeitet wird, sind brauchbare Resultate zu erhalten. Die Mastixprobe bietet aber zu viel technische Schwierigkeiten, als daß sie als Ersatzreaktion in Frage käme. Darum hat seit *Staub* und *Jezler* auch niemand mehr auf sie zurückgegriffen.

Paraffinreaktion: Die Methode war diejenige *Kafkas*. An Empfindlichkeit übertrifft die Paraffinprobe sogar die Mastixreaktion. Das bringt einerseits den Vorteil, daß schon nach wenigen Minuten der Ausfall bewertet werden kann, andererseits den Nachteil, daß viel zu leicht Flockungen auch bei Normalseren auftreten. Diese störenden Kolloidänderungen haben uns zu oft das Resultat beeinträchtigt, als daß wir die Probe zu allgemeinem Gebrauch im Serum empfehlen könnten. Kaum wird je ein takatapositives Serum gefunden, das nicht auch bei dieser Probe stark flockte. Doch wird immer ein großer Prozentsatz der Seren vollständig Gesunder ebenfalls zu positivem Ergebnis führen.

Siliquidreaktion: Staub und *Jezler* haben geglaubt, daß sich „vielleicht auch" die Siliquidreaktion zur Verwendung im Serum eigne. Die Probe hätte zwei große Vorzüge: Einfache Methodik (Einglasverfahren) und raschmögliche Ablesung (5 Minuten). Leider sind die Resultate nicht eindeutig. Trübungen, die einzig den positiven Ausfall kennzeichnen, findet man auch häufig im Serum Gesunder, und eine saubere Trennung von gesund und krank ist in vielen Fällen unmöglich.

Von den Liquor-Kolloidreaktionen halten wir demnach keine für geeignet, neben der Takataprobe in der Serumdiagnose Verwendung zu finden. Ueberraschenderweise teilt *Bauer* (24) neuerdings mit, daß er mit der *Goldsolreaktion* auch im Serum diagnostisch brauchbare Ergebnisse erhalten habe. Er sieht in dieser neuen Seroreaktion eine wertvolle Ergänzung der Proben von *Bauer* und von *Takata*. *Staub* und *Jezler* haben die Goldsolreaktion als viel zu empfindlich abgelehnt. Sie sind technisch allerdings nach den Vorschriften *Langes* verfahren und haben nicht wie *Bauer* das Serum von Anfang an 400fach verdünnt. Die Mitteilung *Bauers* erschien erst, als unsere Untersuchungen praktisch beendet waren. Deshalb kann keine auf eigener Erfahrung beruhende Ansicht vertreten werden.

Zusammenfassung

Alle wichtigen Modifikationen und Ersatzproben der Takataschen Flockungsreaktion werden zur Sprache gebracht und am Material der Klinik bewertet. Keine der angeführten Proben und Modifikationen erscheint vollwertigen Ersatz für die Originalmethode zu bieten. Es wird empfohlen, die Originalmethode beizubehalten und nochmals eine genaue Ausführungsvorschrift gegeben.

1. *Jezler:* Klin. Wschr. 1937, I, 50. — 2. *Skouge:* Klin. Wschr. 1933, I, 905. — 3. *Oefelein:* Klin. Wschr. 1935, I, 56. — 4. *Hafström:* Acta med. Scand. (Schwd.) Suppl. 62. — 5. *Del Cannizzo:* Rev. espan. Enferm. Apar. digest. 2, 403. — 6. *Pongor:* Beitr. Klin. Tbk. 78, 758. — 7. *Timpano:* Riv. Pat. e Clin. Tub. 9, H. 8. — 8. *Recht:* Z. Kinderhk. 54, 419; Klin. Wschr. 1936, II, 1006. — 9. *Gemeinhardt:* Klin. Wschr. 1935, II, 1362. — 10. *Magath:* Amer. J. digest. dis. Chicago J. 106, 1338. — 11. *van Ginkel:* Nd. Tschr. Geneesk. 78, 991. — 12. *Gros:* Z. exper. Med. 101, 519. — 13. *Crane:* J. med. Sci. 187, 705. — 14. *Heath:* New Engld. J. Med. 211, 1077. — 15. *Ucko:* C. r. Soc. Biol. 118, 534; Guy's Hosp. Rep. (Lond.) 86, 166; Klin. Wschr. 1936, II, 1074. — 16. *Cozzutti:* Diagn. e Tecn. Labor. 7, 249. — 17. *Benedetto:* Boll. Soc. med.-chir. Catania 5, 321. — 18. *Staub* und *Jezler:* Klin. Wschr. 1935, II, 1638. — 19. *Mancke* und *Sommer:* Münch. med. Wschr. 1936, II, 1707. — 20. *Seiler* und *Rehm:* Z. exper. Med. 100, 736. — 21. *Bauer:* Med. Klin. 1934, Nr. 4. — 22. *Oliva:* Minerva Med. (It.) 26, II, Nr. 32. — 23. *Schmitt:* Kolloidreaktionen der Rückenmarksflüssigkeit. Dresden 1932, Steinkopff. — 24. *Bauer:* Klin. Wschr. 1937, II, 1570.